

## **BETA-D-XYLOSIDE AGENT FOR SUPPRESSING CANCEROUS METASTASIS**

Patent Number: JP60034913  
Publication date: 1985-02-22  
Inventor(s): SUZUKI AKIRA; others: 05  
Applicant(s): SEIKAGAKU KOGYO KK  
Requested Patent: ☐ JP60034913  
Application Number: JP19830142559 19830805  
Priority Number(s):  
IPC Classification: A61K31/70  
EC Classification:  
Equivalents: JP1736215C, JP4025254B

### **Abstract**

**PURPOSE:** An agent for suppressing cancerous metastasis, suppressing selectively only metastasis ability of tumor cell, being expected to have improved effects especially on malignant tumor having high metastasis property, without exerting ban influence on cell multiplication at all, containing an S- or O-beta-D-xyloside compound as an active ingredient.

**CONSTITUTION:** A beta-D-xyloside compound shown by the formula (X is O, or S; R is 1-8C alkyl) is used as an agent for suppressing cancerous metastasis. The compound shown by the formula disturbs proteoglycan existing on the surface of tumor cell, has effect on great change in molecular structure and configuration on the surface of tumor cell, and shows extremely improved suppressing effect on cancerous metastasis. Namely, since it has no bad influence on cell multiplications, and suppresses selectively only metastasis ability of tumor cell, it has no side effects such as bone marrow disorder, cardiotoxicity in an ordinary carcinostatic agent (e.g., alkylating agent, etc.). It is expected to have improved effect especially on malignant tumor (e.g., malignant melanoma, fibrosarcoma, lymphosarcoma, etc.) having high metastasis property.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭60-34913

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>A 61 K 31/70  
// C 07 H 15/04  
15/14

識別記号

ADU

庁内整理番号

6664-4C  
7252-4C  
7252-4C

⑭ 公開 昭和60年(1985)2月22日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全8頁)

⑮ 発明の名称  $\beta$ -D-キシロシド系癌転移抑制剤

⑯ 特 願 昭58-142559

⑰ 出 願 昭58(1983)8月5日

⑱ 発 明 者 鈴木 旺 名古屋市名東区本郷2-167  
 ⑱ 発 明 者 野 依 良 治 愛知県愛知郡日進町梅森新田135-417  
 ⑱ 発 明 者 祖父江 三津子 名古屋市瑞穂区高田町4-1-2  
 ⑱ 発 明 者 桜井 勝 清 東大和市立野3丁目1253 生化学工業株式会社東京研究所内  
 ⑱ 発 明 者 蒲原 重 喜 東大和市立野3丁目1253 生化学工業株式会社東京研究所内  
 ⑱ 発 明 者 上野 義 夫 東大和市立野3丁目1253 生化学工業株式会社東京研究所内  
 ⑲ 出 願 人 生化学工業株式会社 東京都中央区日本橋本町2丁目9番地の8  
 ⑳ 代 理 人 弁理士 津 国 肇

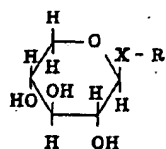
## 明 細 書

## 1. 発明の名称

 $\beta$ -D-キシロシド系癌転移抑制剤

## 2. 特許請求の範囲

次式:



(式中、Xは、酸素原子又はイオウ原子を表わし、Rは、炭素原子数1~8の直鎖状又は分枝状のアルキル基を表わす)で示される $\beta$ -D-キシロシド系化合物を有効成分とすることとを特徴とする $\beta$ -D-キシロシド系癌転移抑制剤。

## 3. 発明の詳細な説明

本発明は、 $\beta$ -D-キシロシド系癌転移抑制剤に関する。

悪性腫瘍細胞は、正常な細胞にはみられない種々の性質を有しているが、その中でも、ある組織に発生した悪性腫瘍細胞が他の組織あるいは臓器に転移する現象は、最も悪性の名にふさわしも

のであり、その機構をふまえての転移抑制剤の開発は医学的・薬学的に最も重要な課題の一つである。

腫瘍細胞の転移は、(a)発生部位における急速な細胞増殖、(b)血管内への侵入、(c)特定臓器の毛細血管内への沈着、(d)血管の内側から外側への透過、(e)転移部位での急速な増殖など多くの過程から成っている。原理的には、この中のどれか一つの過程を抑制すれば転移が抑制される筈である。ところで、(c)から(e)までの過程、即ち、血管壁の内側への沈着とそれにつづく外側への透過、そして増殖は、前もって試験管内で増殖させた一定数の腫瘍細胞を直接マウスの静脈へ注射し、時間を追ってそれら細胞の挙動と、標的となる臓器に新生する転移コロニーの数を組織学的、生化学的に定量する手法が確立され[I. J. Fidler, et al.: Nature, 283, 139-146(1980)]、現在は、国際的にもこれを判定の基準として腫瘍細胞の転移能を定量する例が多い。

例えば、Raz ら [A. Raz, et al.; Cancer Research, 40, 1645-1651 (1980)] は、マウスメラノーマ (悪性黒色細胞腫) 細胞 50,000 個を C57BL/6 マウスの静脈に注射し、18日後に肺を切除して転移によって生じたメラノーマ細胞の黒色コロニーの数をカウントした場合、そのコロニー数の平均値はメラノーマ細胞の細胞表面化学組成と密接な関係があることを報告している。

一方、Kimata ら [K. Kimata, et al.; Cancer Research, 43, 1347-1354 (1983)] は、マウス自然発生乳癌より分離された FM3A 癌細胞を  $2.5 \times 10^5$  又は  $1.0 \times 10^6$  個を C3H/He マウスの静脈に注射し、18日後に肺を切除して転移巣の数をカウントする方法で、FM3A 細胞群の中でも細胞表面にヒアルロン酸を多量にもつ細胞ほど転移能が高いことを明らかにしている。更に、Honma ら [Y. Honma, et al.; Gann, 72, 898-905 (1981)] は、FM3A 細胞に転移能が高いほど宿主マウスの生存日数が短くなることを証明している。

Chemistry, 253, 2784-2789 (1978): P. R. Sudhakaran, et al.; Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie, 362, 39-46 (1981)]。

$\beta$ -D-キシロシド系化合物については、C- $\beta$ -D-キシロシド系化合物 (特開昭58-77879号公報)、S- $\beta$ -D-キシロシド系化合物 (特開昭58-46099号公報) 及び O- $\beta$ -D-キシロシド系化合物 [B. Lindberg; Acta Chem. Scand., 3, 151-156 (1949); A. Thompson, et al.; Methods Carbohydr. Chem., 2, 215-220 (1963)] などの化合物群が知られているが、癌転移抑制剤としての適用に関する報告は未だなされていない。

本発明者らは、新規な癌転移抑制剤を開発すべく、 $\beta$ -D-キシロシド系化合物のうち、高転移性メラノーマ細胞 B16F-10 によって活発に合成され細胞表面に分布するプロテオコンドロイチン硫酸を特異的に攪乱する  $\beta$ -D-キシロシド系化合物約 80 種を化学合成し、その攪乱活性の測定スクリーニングを行なったところ、ある種の

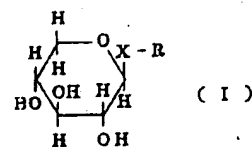
また、上述したように腫瘍細胞が転移するためには、その細胞が血管内皮に沈着する過程が不可欠であるが、この沈着は腫瘍細胞の表面に分布する分子と血管内皮マトリックスを構成する分子との相互認識、結合によって引き起こされることが多くの基礎実験によって明らかにされている [R. H. Kramer, et al.; Proceedings of Natural Academy of Science, U.S.A., 76, 5704-5708 (1979)]。

一方、メラノーマ B16 系の細胞表面には、多量のプロテオグリカンが存在し、それらはムコ多糖鎖鎖としてコンドロイチン硫酸を有するもの、ヘパラン硫酸を有するものの 2 群より成ることが明らかにされている [C. Satoh, et al.; Biochemistry, 13, 1233-1241 (1974)]。これらのプロテオグリカンは  $\beta$ -D-キシロシド系化合物の投与によってその生合成が特異的に攪乱され、細胞表面に定着できない分子構造に変化させられることが多くの実験で証明されている [Y. Kato, et al.; Journal of Biological

S- $\beta$ -D-キシロシド系化合物及び O- $\beta$ -D-キシロシド系化合物が特に優れた攪乱活性を示し、更に、この化合物について、癌転移抑制効果を検討したところ、顕著な効果を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明の癌転移抑制剤は、

次式 (I) :

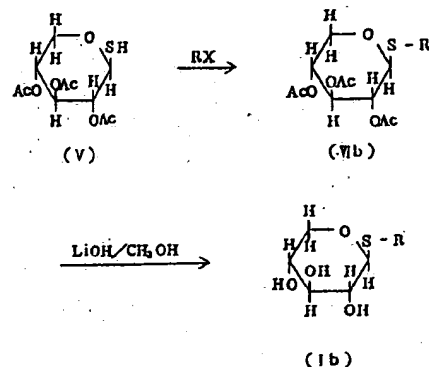
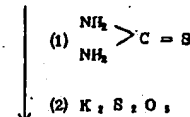
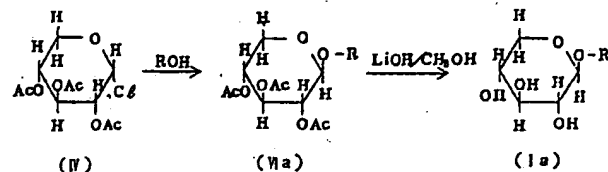
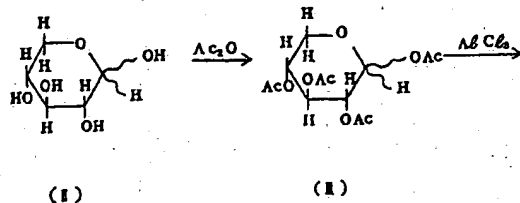


(式中、X は、酸素原子又はイオウ原子を表わし、R は、炭素原子数 1~8 の直鎖状又は分枝状のアルキル基を表わす) で示される  $\beta$ -D-キシロシド系化合物を有効成分とすることを特徴とするものである。

前記式において、R で表わされるアルキル基としては、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、n-アミル基 (ペンチル基)、イソアミル基、n-ヘキシル

基、*n*-ヘプチル基、*n*-オクチル基、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロヘキシル基等が挙げられるが、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*n*-ブチル基、*n*-アミル基、イソアミル基、*n*-ヘキシル基が好ましく、*n*-ブチル基が更に好ましい。

前記式(I)で示される化合物は、例えば、次に示す反応経路に従って合成することができる。



【前記経路及び式中、Acはアセチル基を表わす。Xは臭素原子又はヨウ素原子を表わし、Rは前述の意味を有する。】

即ち、D-キシロース(II)をハドソン(Hudson)等の方法[C.S.Hudson, et al.; J. Am. Chem. Soc., 37, 2748(1915)]によりアセチル化してテトラアセテート(III)を得、これをホランド(Holland)等の方法[C.V.Holland, et al.; J. Org. 32, 1818(1967)]により塩化アルミニウムで処理して化合物(IV)を得る。このとき、(III)を塩化アルミニウムで短時間処理すると(IV)のβ-体が得られるが、長時間処理すると熱力学的により安定なα-体が得られる。(IV)は、また、(II)を塩化亜鉛存在下、塩化アセチルで処理することによっても得ることができる【上記、J. Am. Chem. Soc., 37, 2748(1915)参照】。

この化合物(IV)を酸化銀及びアルコールで処理すると化合物(Va)が得られ、これをメタノール中、触媒量の水酸化リチウム等の塩基で処理す

ると対応するO-β-D-キシロシド系化合物(Ia)が得られる。

一方、化合物(IV)をチオ尿素、次いでピロ亜硫酸カリウムと反応させて化合物(V)を得る。次いで、この化合物(V)をRXで示される臭化物若しくはヨウ化物と反応させて化合物(Vb)を得る。かくして得られる化合物(Vb)をメタノール中、触媒量の水酸化リチウム等の塩基で処理すると、対応するS-β-D-キシロシド系化合物(Ib)が得られる。

天然プロテオコンドロイチン硫酸は、芯(コア)としてのタンパク質(コアタンパク質)に数十本のコンドロイチン硫酸側鎖が結合した分子であるが、上記の方法で、得られたβ-D-キシロシド系化合物は、いずれも、試験管内で培養中のメラノーマB16-F10細胞に対し、0.05mM~1.0mMの範囲内で、新たに合成されるプロテオコンドロイチン硫酸の80%以上を、コアタンパク質をもたないコンドロイチン硫酸に変化させ、従って細胞表面へのプロテオコンドロイチン硫酸の

定着を不可能にする活性を示した。即ち、腫瘍細胞の表面に分布する分子構造と配置を大きく変化させる効力を有することが証明された。

次に、本発明に用いる $\beta$ -D-キシロシド系化合物(S- $\beta$ -D-キシロシド系化合物及びO- $\beta$ -D-キシロシド系化合物)と、他のキシロシド系化合物、即ち、C- $\beta$ -D-キシロシド系化合物とについて、腫瘍細胞の増殖能に与える影響を比較検討したところ、これらのキシロシド系化合物は、いずれも、細胞の増殖に対しては、抑制効果を示さず、また、他の正常細胞、例えば、マウス皮膚の線維芽細胞(フィibroプラスト)、ニワトリ軟骨細胞(コンドロサイト)、マウス乳腺上皮細胞等に対しても全く毒性(生長抑制)を示さなかった。

更に、これらのキシロシド系化合物について、マウス腫瘍細胞の転移能に対する効果を比較検討したところ、本発明に用いる $\beta$ -D-キシロシド系化合物、即ち、S- $\beta$ -D-キシロシド系化合物及びO- $\beta$ -D-キシロシド系化合物は、C-

$\beta$ -D-キシロシド系化合物に比し、顕著に優れた転移抑制効果を示した。

即ち、本発明の癌転移抑制剤は、細胞の増殖に対しては、何ら影響を与えず、腫瘍細胞の転移能のみを選択的に抑制するので、一般の制癌剤、例えば、アルキル化剤、代謝拮抗剤等にみられる骨髄障害、心毒性、脱毛等の副作用がないことが示唆された。

本発明の癌転移抑制剤は、その要理からみて、特にプロテオグリカンを活発に合成し、細胞表面に保有している種々の悪性腫瘍の転移抑制に用いられるが、特に、高転移性の悪性腫瘍、例えば、悪性黒色腫(メラノーマ)、線維肉腫(フィbroザルコーマ)、リンパ肉腫(リンフォザルコーマ)、リンパ腫(リンフォーマ)等に対して優れた効果が期待され、また外科療法時には転移が起きやすいので、このような場合にも、優れた効果を示すと推定される。

本発明の癌転移抑制剤の適用に際しては、顆粒剤、細粒剤、散剤、錠剤、カプセル剤、シロップ

剤、懸濁剤若しくは液剤等の剤型にして、又は原末のまま経口投与してもよいし、注射剤として静脈内投与、動脈内投与、門脈内投与、胸腹腔内投与、筋肉内投与、皮下投与又は腫瘍内投与してもよい。また、注射用の粉末にして、用時調製して使用してもよいし、坐剤等の剤型にして、経腸又は非経口投与してもよい。経口、経腸若しくは非経口投与に適した医薬用の有機又は無機の、固体又は液体の担体若しくは稀釈剤を本発明の癌転移抑制剤の調製に用いることができる。水、ゼラチン、乳糖、でんぷん、ステアリン酸マグネシウム、タルク、動植物油脂、ベンジルアルコール、ガム、ポリアルキレングリコール、石油樹脂、やし油、ラノリン又は医薬に用いられる他のキャリアー(担体)はすべて、本発明に用いるキシロシド系化合物の担体として適用することができる。また、安定剤、湿潤剤、乳化剤や、浸透圧を変えたり、配合剤の適切なpHを維持するための塩類を補助薬剤として適宜用いることもできる。更に、本発明の癌転移抑制剤は、前記悪性腫瘍の治療に

おいて、本発明の癌転移抑制剤とともに適切に投与することができる他の医薬として有効な成分、例えば、一般の抗悪性腫瘍剤又は抗炎症剤、抗生物質、止血剤若しくは消化性潰瘍治療剤を含有していてもよい。

臨床投与量は、経口投与により用いる場合には、成人に対しキシロシド系化合物として、1日量200~5,000mgを内服するのが好ましいが、年齢、病態、症状により適宜増減することが更に好ましい。前記1日量の癌転移抑制剤は、1日に1回、又は適当な間隔をおいて1日に2若しくは3回に分けて投与してもよいし、間欠投与してもよい。

また、注射剤として用いる場合には、成人に対しキシロシド系化合物として、1回量2~100mgを連続投与又は間欠投与することが好ましい。

以下に、本発明を合成例、試験例及び実施例に基づいて更に詳細に説明するが、これらは、本発明の範囲を何ら制限するものではない。

尚、以下に示す実施例において、キシロシド系

定着を不可能にする活性を示した。即ち、腫瘍細胞の表面に分布する分子構造と配置を大きく変化させる効力を有することが証明された。

次に、本発明に用いる $\beta$ -D-キシロシド系化合物(S- $\beta$ -D-キシロシド系化合物及びO- $\beta$ -D-キシロシド系化合物)と、他のキシロシド系化合物、即ち、C- $\beta$ -D-キシロシド系化合物とについて、腫瘍細胞の増殖能に与える影響を比較検討したところ、これらのキシロシド系化合物は、いずれも、細胞の増殖に対しては、抑制効果を示さず、また、他の正常細胞、例えば、マウス皮膚の線維芽細胞(フィブロブラスト)、ニワトリ軟骨細胞(コンドロサイト)、マウス乳腺上皮細胞等に対しても全く毒性(生長抑制)を示さなかった。

更に、これらのキシロシド系化合物について、マウス腫瘍細胞の転移能に対する効果を比較検討したところ、本発明に用いる $\beta$ -D-キシロシド系化合物、即ち、S- $\beta$ -D-キシロシド系化合物及びO- $\beta$ -D-キシロシド系化合物は、C-

$\beta$ -D-キシロシド系化合物に比し、顕著に優れた転移抑制効果を示した。

即ち、本発明の癌転移抑制剤は、細胞の増殖に対しては、何ら影響を与えず、腫瘍細胞の転移能のみを選択的に抑制するので、一般の制癌剤、例えば、アルキル化剤、代謝拮抗剤等にみられる骨髓障害、心毒性、脱毛等の副作用がないことが示唆された。

本発明の癌転移抑制剤は、その薬理からみて、特にプロテオグリカンを活発に合成し、細胞表面に保有している種々の悪性腫瘍の転移抑制に用いられるが、特に、高転移性の悪性腫瘍、例えば、悪性黒色腫(メラノーマ)、線維肉腫(フィブrosarcoma)、リンパ肉腫(リンフォsarcoma)、リンパ腫(リンフォーマ)等に対して優れた効果が期待され、また外科療法時には転移が起きやすいので、このような場合にも、優れた効果を示すと推定される。

本発明の癌転移抑制剤の適用に際しては、顆粒剤、細粒剤、散剤、錠剤、カプセル剤、シロップ

剤、懸濁剤若しくは液剤等の剤型にして、又は原末のまま経口投与してもよいし、注射剤として静脈内投与、動脈内投与、門脈内投与、胸腹腔内投与、筋肉内投与、皮下投与又は腫瘍内投与してもよい。また、注射用の粉末にして、用時調製して使用してもよいし、坐剤等の剤型にして、経腸又は非経口投与してもよい。経口、経腸若しくは非経口投与に適した医薬用の有機又は無機の、固体又は液体の担体若しくは稀釈剤を本発明の癌転移抑制剤の調製に用いることができる。水、ゼラチン、乳糖、でんぷん、ステアリン酸マグネシウム、タルク、動植物油脂、ベンジルアルコール、ガム、ポリアルキレングリコール、石油樹脂、やし油、ラノリン又は医薬に用いられる他のキャリアー(担体)はすべて、本発明に用いるキシロシド系化合物の担体として適用することができる。また、安定剤、湿潤剤、乳化剤や、浸透圧を変えたり、配合剤の適切なpHを維持するための塩類を補助薬剤として適宜用いることもできる。更に、本発明の癌転移抑制剤は、前記悪性腫瘍の治療に

おいて、本発明の癌転移抑制剤とともに適切に投与することができる他の医薬として有効な成分、例えば、一般の抗悪性腫瘍剤又は抗炎症剤、抗生物質、止血剤若しくは消化性潰瘍治療剤を含有していてもよい。

臨床投与量は、経口投与により用いる場合には、成人に対しキシロシド系化合物として、1日量200~5,000mgを内服するのが好ましいが、年齢、病態、症状により適宜増減することが更に好ましい。前記1日量の癌転移抑制剤は、1日に1回、又は適当な間隔をおいて1日に2若しくは3回に分けて投与してもよいし、間欠投与してもよい。

また、注射剤として用いる場合には、成人に対しキシロシド系化合物として、1回量2~100mgを連続投与又は間欠投与することが好ましい。

以下に、本発明を合成例、試験例及び実施例に基づいて更に詳細に説明するが、これらは、本発明の範囲を何ら制限するものではない。

尚、以下に示す実施例において、キシロシド系

化合物の癌転移抑制効果を検討する際に、接種前の腫瘍細胞に直接キシロシド系化合物を作用させているが、これは、該化合物の効果が、腫瘍細胞の表面に存在するプロテオグリカンの攪乱によって特異的に導かれるものであることを厳密に証明する目的からである。

#### 合成例1 n-ヘプチル 1-S-β-D-キシロシドの合成

50%アセトン水溶液20mlに2,3,4-トリ-O-アセチル-1-S-β-D-キシロシド(V) 2.92gと臭化n-ヘプチル1.79gを加えた。この溶液に、更に、炭酸カリウム1.38gを加え、1時間煮沸還流した。反応終了後、溶液を酢酸で中和し、クロロホルムで抽出し、水洗後乾燥した。溶媒を留去し、無色油状のn-ヘプチル 2,3,4-トリ-O-アセチル-1-S-β-D-キシロシド(VIb) 2.55gを得た。収率85.3%。

次にこの化合物(VIb) 2.45gをメタノール10mlに溶解し、この溶液に水酸化リチウム10mgを

臭化n-ヘプチルの代わりに、臭化メチル、臭化エチル、臭化n-プロピル、臭化イソプロピル、臭化n-ブチル、臭化イソブチル、臭化sec-ブチル、臭化tert-ブチル、臭化n-アミル、臭化イソアミル、臭化n-ヘキシル、臭化シクロプロピル、臭化シクロブチル、臭化シクロヘキシルを用いた以外は、合成例1と同一の原料及び方法により、それぞれ対応するアルキル 1-S-β-D-キシロシドを得た。

#### 合成例4 エチル 1-O-β-D-キシロシドの合成

アセトニトリル30mlに2,3,4-トリ-O-アセチル-α-D-キシロシルクロリド 2.95g、調製したばかりの酸化銀4.64g及び無水エタノール0.92gを加えて、室温下一夜攪拌した。反応終了後、濾過し、濾液を濃縮した後、残渣をクロロホルム100mlで抽出した。抽出液を飽和炭酸水素ナトリウム溶液、水で順次洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を留去し、白色粉末状のエチル 2,3,4-トリ-O-アセチル-1-

加えた後、室温で1時間攪拌して、n-ヘプチル 1-S-β-D-キシロシド1.5gを得た。収率95%。

#### 合成例2 n-オクチル 1-S-β-D-キシロシドの合成

塩化メチレン20mlに2,3,4-トリ-O-アセチル-1-S-β-D-キシロシド(V) 2.92gと臭化n-オクチル1.93gを溶解し、更にトリエチルアミン1.53mlを加えて、室温下1日間攪拌した。反応終了後、反応溶液を水洗し、乾燥した後、溶媒を留去し、無色で油状のn-オクチル 2,3,4-トリ-O-アセチル-1-S-β-D-キシロシド(VIb) 1.039gを得た。収率25.7%。

かくして得られた化合物(VIb) 2gをメタノール10mlに溶解し、水酸化リチウム15mgを加えて、室温で1時間攪拌し、n-オクチル 1-S-β-D-キシロシドの無色針状品1.32gを得た。収率95%。

#### 合成例3

O-β-D-キシロシド(VIa) 2.04gを得た。収率86.9%。

次にこの化合物(VIa) 2.04gをメタノール20mlに溶解し、この溶液に水酸化リチウム0.02gを加えた後、室温で4時間攪拌して、エチル 1-O-β-D-キシロシド0.8gを得た。収率44.9%。

#### 合成例5 n-ブチル 1-O-β-D-キシロシドの合成

アセトニトリル50mlに2,3,4-トリ-O-アセチル-α-D-キシロシルクロリド4.43g、調製したばかりの酸化銀8.95g、炭酸カルシウム1.0g、モレキュラ・シーブス3A 1/16 1.0g及び無水n-ブタノール2.22gを加えて、室温下2時間攪拌した。反応終了後、濾過し、濾液を濃縮した後、残渣をクロロホルム100mlで抽出した。抽出液を飽和炭酸水素ナトリウム溶液、水で順次洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を留去し、油状物を含む固体状のn-ブチル 2,3,4-トリ-O-アセチル-1-O-β-D-キシロシド(VIa) 4.20gを得た。収率84.1%。

次にこの化合物 (VIa) 4.20g をメタノール 40ml に溶解し、この溶液に水酸化リチウム 0.05g を加えた後、室温で2時間攪拌して、*n*-ブチル 1-O-β-D-キシロシド 2.1g を得た。収率 88.0%。

#### 合成例 6 *n*-オクチル 1-O-β-D-キシロシドの合成

アセトニトリル 30ml に 2, 3, 4-トリ-O-アセチル-α-D-キシロシルクロリド 2.85g、調製したばかりの酸化銀 4.84g 及び無水 *n*-オクタノール 1.30g を加えて、室温下一夜攪拌した。反応終了後、濾過し、濾液を濃縮した後、残渣をクロロホルム 100ml で抽出した。抽出液を飽和炭酸水素ナトリウム溶液、水で順次洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を留去し、油状の *n*-オクチル 2, 3, 4-トリ-O-アセチル-1-O-β-D-キシロシド (VIa) 3.20g を得た。収率 82.3%。

次にこの化合物 (VIa) 3.20g をメタノール 20ml に溶解し、この溶液に水酸化リチウム 0.02g を加

量の倍量のビタミンを含むイーグル (Eagle's) MEM 培地に、更にビルビン酸、アミノ酸を補強した培地中で 5% CO<sub>2</sub>、加湿空気中において 37℃ で培養した。増殖曲線を第 1 図に示す。細菌、ウィルスによる汚染はなかった。実験値の測定に当っては用いる細胞の生理条件を一定にするため前もって充分量の腫瘍細胞を同一条件下に大量培養し、液体窒素で冷却した容器中に凍結保存し、必要に応じて凍結保存細胞の一部を解冻して、前記条件下に培養増殖させてから実験に供した。

静脈注射と転移コロニーの測定：培養皿中の B16-F10 細胞は底部に強く接着しているので、2mM のエチレンジアミンテトラアセテートを含むリン酸緩衝生理的食塩水を用いて遊離させ、一部を用いてトリパン青染色で死細胞数のパーセントをカウントし、更に細胞相互の接着のないことを確認の上 5×10<sup>4</sup> 個/0.1ml 又は 0.4ml リン酸緩衝生理的食塩水懸濁液として、C57BL/6 マウス (1つの測定に 7-13匹を使用) の尻尾

えた後、室温で3時間攪拌して、*n*-オクチル 1-O-β-D-キシロシド 1.80g を得た。収率 81.1%。

#### 合成例 7

無水エタノールの代わりに、無水メタノール、無水 *n*-プロパノール、無水イソプロパノール、無水イソブタノール、無水 *sec*-ブタノール、無水 *tert*-ブタノール、無水 *n*-アミルアルコール、無水イソアミルアルコール、無水 *n*-ヘキサノール、無水 *n*-ヘプタノールを用いた以外は、合成例 4 と同一の原料及び方法により、それぞれ対応するアルキル 1-O-β-D-キシロシドを得た。

#### 試験例 1 転移能の測定法

腫瘍細胞：Fidler 氏 [I. J. Fidler, et al.; Nature, 283, 139-146 (1980)] によってマウスから分離された高転移性のメラノーマ B16-F10 株を使用した。

培養：一般細胞培養の場合と同様、プラスチック製培養皿上で 10% のウシ胎児血清を添加し、基

の静脈に注射した。14日後にマウスを殺し、両肺を摘出し、顕微鏡下に転移コロニーの数を数え、7-13匹のデータの間接値をもって転移コロニーの数とした。以上の条件下で肺での転移コロニーの数は注射した細胞数と 12,500 個から 50,000 個の範囲内で直線関係を示し、本測定法は肺に転移する腫瘍細胞の数を測定する上で信頼できる方法であることが判明した。

#### 試験例 2 腫瘍細胞の増殖能に与える影響

*n*-ブチル 1-S-β-D-キシロシド又は *n*-ブチル 1-C-β-D-キシロシドが腫瘍細胞の増殖能に与える影響について検討した。腫瘍細胞としては、マウスメラノーマ B16-F10 細胞を用いた。

培地は 24 時間ごとに交換した。培養開始 3 日目にそれぞれのキシロシドを添加し、途中 1 回培地交換をした後、培養 5 日目に細胞を採取した。結果を第 2 図に示す。第 2 図において、○印はチオキシロシド、△印は C-キシロシドを、それぞれ添加したものの増殖曲線を表わし、矢印 (↓)



次にこの化合物 (VIa) 4.20g をメタノール 40ml に溶解し、この溶液に水酸化リチウム 0.05g を加えた後、室温で2時間攪拌して、*n*-ブチル 1-O-β-D-キシロシド 2.1g を得た。収率 68.0%。

#### 合成例 6 *n*-オクチル 1-O-β-D-キシロシドの合成

アセトニトリル 30ml に 2, 3, 4-トリ-O-アセチル-α-D-キシロシルクロリド 2.85g、調製したばかりの酸化銀 4.64g 及び無水 *n*-オクタノール 1.30g を加えて、室温下一夜攪拌した。反応終了後、濾過し、濾液を濃縮した後、残液をクロロホルム 100ml で抽出した。抽出液を飽和炭酸水素ナトリウム溶液、水で順次洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した後、溶媒を留去し、油状の *n*-オクチル 2, 3, 4-トリ-O-アセチル-1-O-β-D-キシロシド (VIa) 3.20g を得た。収率 82.3%。

次にこの化合物 (VIa) 3.20g をメタノール 20ml に溶解し、この溶液に水酸化リチウム 0.02g を加

量の倍量のビタミンを含むイーグル (Eagle's) MEM 培地に、更にビルビン酸、アミノ酸を補強した培地中で 5% CO<sub>2</sub>、加湿空気中において 37℃ で培養した。増殖曲線を第 1 図に示す。細菌、ウィルスによる汚染はなかった。実験値の測定に当っては用いる細胞の生理条件を一定にするため前もって充分量の腫瘍細胞を同一条件下に大量培養し、液体窒素で冷却した容器中に凍結保存し、必要に応じて凍結保存細胞の一部を解凍して、前記条件下に培養増殖させてから実験に供した。

静脈注射と転移コロニーの測定：培養皿中の B16-F10 細胞は底部に強く接着しているのので、2mM のエチレンジアミンテトラアセテートを含むリン酸緩衝生理的食塩水を用いて遊離させ、一部を用いてトリパン青染色で死細胞数のパーセントをカウントし、更に細胞相互の接着のないことを確認の上 5×10<sup>4</sup> 個/0.1ml 又は 0.4ml リン酸緩衝生理的食塩水懸濁液として、C57BL/6 マウス (1つの測定に 7-13匹を使用) の尻尾

えた後、室温で3時間攪拌して、*n*-オクチル 1-O-β-D-キシロシド 1.80g を得た。収率 61.1%。

#### 合成例 7

無水エタノールの代わりに、無水メタノール、無水 *n*-プロパノール、無水イソプロパノール、無水イソブタノール、無水 *sec*-ブタノール、無水 *tert*-ブタノール、無水 *n*-アミルアルコール、無水イソアミルアルコール、無水 *n*-ヘキサノール、無水 *n*-ヘプタノールを用いた以外は、合成例 4 と同一の原料及び方法により、それぞれ対応するアルキル 1-O-β-D-キシロシドを得た。

#### 試験例 1 転移能の測定法

腫瘍細胞：Fidler ら [I. J. Fidler, et al.; Nature, 283, 139-146 (1980)] によってマウスから分離された高転移性のメラノーマ B16-F10 株を使用した。

培養：一般細胞培養の場合と同様、プラスチック製培養皿上で 10% のウシ胎児血清を添加し、基

の静脈に注射した。14日後にマウスを殺し、両肺を摘出し、顕微鏡下に転移コロニーの数を数え、7-13匹のデータの間接値をもって転移コロニーの数とした。以上の条件下で肺での転移コロニーの数は注射した細胞数と 12,500 個から 50,000 個の範囲内で直線関係を示し、本測定法は肺に転移する腫瘍細胞の数を測定する上で信頼できる方法であることが判明した。

#### 試験例 2 腫瘍細胞の増殖能に与える影響

*n*-ブチル 1-S-β-D-キシロシド又は *n*-ブチル 1-C-β-D-キシロシドが腫瘍細胞の増殖能に与える影響について検討した。腫瘍細胞としては、マウスメラノーマ B16-F10 細胞を用いた。

培地は 24 時間ごとに交換した。培養開始 3 日目にそれぞれのキシロシドを添加し、途中 1 回培地交換をした後、培養 5 日目に細胞を採取した。結果を第 2 図に示す。第 2 図において、○印はチオキシロシド、△印は C-キシロシドを、それぞれ添加したものの増殖曲線を表わし、矢印 (↑)

は、キシロシドの添加時を交わし、斜線で示された横は、細胞がキシロシドに接触した期間を交わす。第1図及び第2図を比較することにより、キシロシド系化合物は細胞の増殖に対し何ら影響を及ぼさないことがわかる。

### 試験例3 急性毒性試験

合成例において得たアルキル 1-S-β-D-キシロシド及びアルキル 1-O-β-D-キシロシドについて、ddY系マウスを用いて急性毒性試験を行なってLDを求めたところ、以下に示す結果を得た。

第1表

		エチル	n-ブチル	n-オクチル	イソプロピル	イソアミル
S	腹腔内	2700	1840	432	2200	1850
	経内	7200	5800	2400	6700	5800
O	腹腔内	3040	2700	1500	3000	-
	経内	9800	7200	5000	8000	-

(単位: mg/kg)

第2表

キシロシド系化合物	アルキル基	マウス数	マウス1匹(両肺)当たりの転移コロニー数(中間値)
S-キシロシド	メチル	20	61
	エチル	27	58
	n-プロピル	27	59
	n-ブチル	27	54
	n-ペンチル	26	58
	n-ヘキシル	20	63
	n-ヘプチル	15	80
	n-オクチル	13	80
	イソプロピル	10	60
	イソアミル	10	57
O-キシロシド	エチル	27	63
	n-ブチル	27	56
	n-ヘキシル	25	64
	n-オクチル	25	84
	イソプロピル	10	62
	イソアミル	10	62
C-キシロシド	メチル	25	106
	n-ブチル	27	99
無添加	-	27	182

### 実施例 キシロシド系化合物の肺転移抑制効果

基

高転移性メラノーマB16-F10細胞を前述の試験例1の条件下に培養、増殖させ、3日目に最終濃度0.25mMになるようにそれぞれのキシロシド系化合物を添加し、48時間後に細胞をエチレンジアミンテトラアセテート溶液を用いて採取した。対照としてキシロシド系化合物を添加しないものを用いた。次いで、それぞれの細胞50,000個をリン酸緩衝生理的食塩水0.1又は0.4mlに懸濁し、試験例1の転移能測定プロトコールに従ってそれぞれの肺転移能を測定し、結果を第2表に示した。

### 4. 図面の簡単な説明

第1図はキシロシド系化合物無添加のときの、第2図はキシロシド系化合物を添加したときの、細胞増殖曲線を示す図である。

は、キシロシドの添加時を交わし、斜線で示された横 は、細胞がキシロシドに接触した期間を表わす。第1図及び第2図を比較することにより、キシロシド系化合物は細胞の増殖に対し何ら影響を及ぼさないことがわかる。

### 試験例3 急性毒性試験

合成例において得たアルキル 1-S-β-D-キシロシド及びアルキル 1-O-β-D-キシロシドについて、ddY系マウスを用いて急性毒性試験を行なってLDを求めたところ、以下に示す結果を得た。

第1表

	エチル	n-ブチル	n-オクチル	イソプロピル	イソアミル
S	腹腔内	2700	1840	432	2200
	経 内	7200	5800	2400	6700
O	腹腔内	3040	2700	1500	3000
	経 内	9800	7200	5000	8000

(単位: mg/kg)

第2表

キシロシド系化合物	アルキル基	マウス数	マウス1匹(両肺)当たりの転移コロニー数(中間値)
S-キシロシド	メチル	20	61
	エチル	27	58
	n-プロピル	27	59
	n-ブチル	27	54
	n-ペンチル	26	58
	n-ヘキシル	20	63
	n-ヘプタール	15	80
	n-オクチル	13	80
	イソプロピル	10	60
O-キシロシド	イソアミル	10	57
	エチル	27	63
	n-ブチル	27	56
	n-ヘキシル	25	64
	n-オクチル	25	84
	イソプロピル	10	62
C-キシロシド	イソアミル	10	62
	メチル	25	106
無添加	n-ブチル	27	99
	-	27	182

### 実施例 キシロシド系化合物の肺転移抑制効果

基

高転移性メラノーマB16-F10細胞を前述の試験例1の条件下に培養、増殖させ、3日目に最終濃度0.25mMになるようにそれぞれのキシロシド系化合物を添加し、48時間後に細胞をエチレンジアミンテトラアセテート溶液を用いて採取した。対照としてキシロシド系化合物を添加しないものを用いた。次いで、それぞれの細胞50,000個をリン酸緩衝生理的食塩水0.1又は0.4mlに懸濁し、試験例1の転移能測定プロトコールに従ってそれぞれの肺転移能を測定し、結果を第2表に示した。

### 4. 図面の簡単な説明

第1図はキシロシド系化合物無添加のときの、第2図はキシロシド系化合物を添加したときの、細胞増殖曲線を示す図である。

は、キシロシドの添加時を交わし、斜線で示された横線は、細胞がキシロシドに接触した期間を表わす。第1図及び第2図を比較することにより、キシロシド系化合物は細胞の増殖に対し何ら影響を及ぼさないことがわかる。

### 試験例3 急性毒性試験

合成例において得たアルキル 1-S-β-D-キシロシド及びアルキル 1-O-β-D-キシロシドについて、ddY系マウスを用いて急性毒性試験を行なってLDを求めたところ、以下に示す結果を得た。

第1表

		エチル	n-ブチル	n-オクチル	イソプロピル	イソアミル
S	腹腔内	2700	1840	432	2200	1850
	経内	7200	5800	2400	6700	5800
O	腹腔内	3040	2700	1500	3000	—
	経内	9800	7200	5000	8000	—

(単位: mg/kg)

第2表

キシロシド系化合物	アルキル基	マウス数	マウス1匹(両肺)当たりの転移コロニー数(中間値)
S-キシロシド	メチル	20	61
	エチル	27	58
	n-プロピル	27	59
	n-ブチル	27	54
	n-ペンチル	26	58
	n-ヘキシル	20	63
	n-ヘプチル	15	80
	n-オクチル	13	80
	イソプロピル	10	60
	イソアミル	10	57
O-キシロシド	エチル	27	63
	n-ブチル	27	56
	n-ヘキシル	25	64
	n-オクチル	25	84
	イソプロピル	10	62
	イソアミル	10	62
C-キシロシド	メチル	25	106
	n-ブチル	27	99
無添加	—	27	182

### 実施例 キシロシド系化合物の肺転移抑制効果

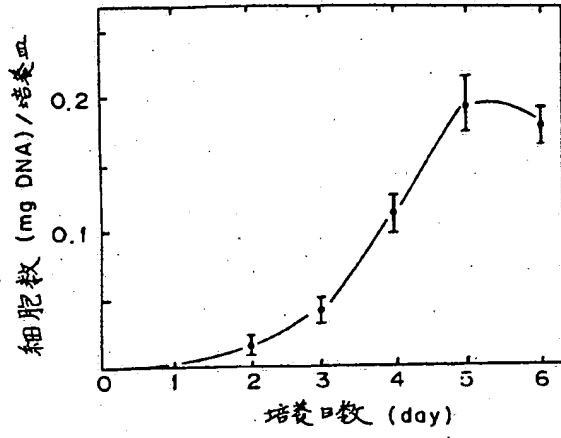
果

高転移性メラノーマB16-F10細胞を前述の試験例1の条件下に培養、増殖させ、3日月に最終濃度0.25mMになるようにそれぞれのキシロシド系化合物を添加し、48時間後に細胞をエチレンジアミンテトラアセテート溶液を用いて採取した。対照としてキシロシド系化合物を添加しないものを用いた。次いで、それぞれの細胞50,000個をリン酸緩衝生理的食塩水0.1又は0.4mlに懸濁し、試験例1の転移能測定プロトコールに従ってそれぞれの肺転移能を測定し、結果を第2表に示した。

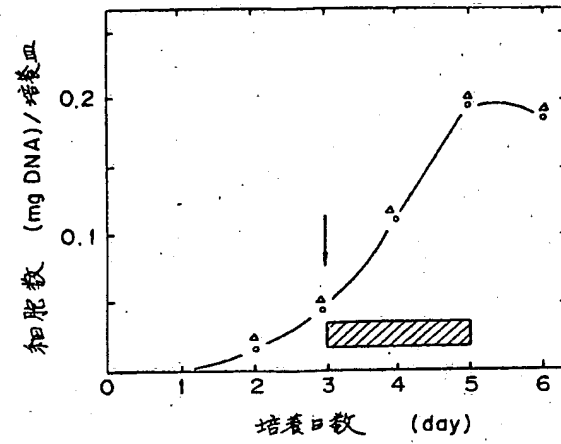
### 4. 図面の簡単な説明

第1図はキシロシド系化合物無添加のときの、第2図はキシロシド系化合物を添加したときの、細胞増殖曲線を示す図である。

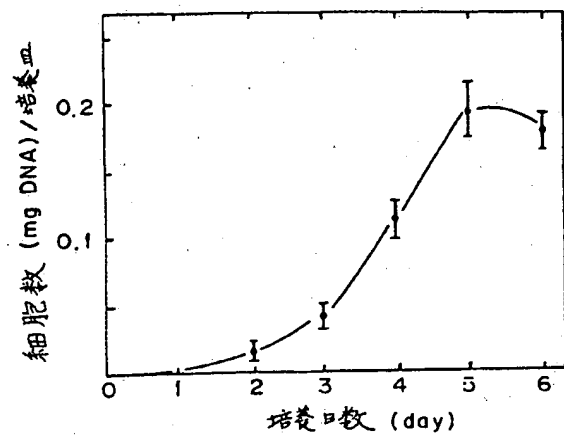
第 1 図



第 2 図



第 1 図



第 2 図

